AK（No.150232）
体外診断用医薬品

この添付文書をよく読んでから使用してください。

2011年11月作成（第1版）

血液凝固因子検査用ＰＩＶＫＡ－Ⅱキット

デタミナーＣＬ　ピブカルテスト

〈化学発光酵素免疫測定法キット〉

製造販売認証番号：224AAAMX00008000

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断して下さい。
3. 添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
4. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。
5. 構成試薬（1,2,3）はアジ化ナトリウム（0.1％以下）を含有しております。誤って目や口に入れたり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. SA結合粒子
   ストレプトアビジン結合磁性粒子
2. ビオチン化抗体
   ビオチン化抗ヒトＰＩＶＫＡ－Ⅱモノクローナル抗体（マウス）
3. 酵素標識抗体
   アルカリホスファターゼ標識抗ヒトプロトロンビンモノクローナル抗体（マウス）
4. 標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A
   脱炭酸プロトロンビン
5. 標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬B
   脱炭酸プロトロンビン

別売品　以下の試薬は別売りしております。組み合わせてご使用下さい。

6. 発光試薬（APS-5）*1
   9-(4-クロロフェニルチオホスホリルオキシメチリデン)-10-メチルアクリダン二ナトリウム塩

＊1 Lumigen®APS-5は、Lumigen社（米国ミシガン州　サウスフィールド）より供給されています。
Lumigen®はLumigen社の登録商標です。（日本特許公報No.3169383）

【使用目的】

血漿中の血液凝固因子ＰＩＶＫＡ－Ⅱ（異常プロトロンビン）の検出

【測定原理】

本品は抗ヒトＰＩＶＫＡ－Ⅱモノクローナル抗体（マウス）と抗ヒトプロトロンビンモノクローナル抗体（マウス）を用いた2ステップサンドイッチ法に基づいた化学発光酵素免疫測定（CLEIA法）を原理とし、血漿中の血液凝固因子ＰＩＶＫＡ－Ⅱを検出する試薬です。ＰＩＶＫＡ－Ⅱを含有する検体にSA結合粒子（ストレプトアビジン結合磁性粒子）、ビオチン化抗体（ビオチン化抗ヒトＰＩＶＫＡ－Ⅱモノクローナル抗体（マウス））を反応させると、SA結合粒子-ビオチン化抗体-ＰＩＶＫＡ－Ⅱの複合体が形成されます。この複合体を磁力で集磁した後に洗浄を行い、未反応物を除去した後に酵素標識抗体（アルカリホスファターゼ標識抗ヒトプロトロンビンモノクローナル抗体（マウス））を反応させると、SA結合粒子-ビオチン化抗体-ＰＩＶＫＡ－Ⅱ-標識抗体の複合体が形成されます。この複合体を磁力で集磁した後に洗浄を行い、未反応物を除去した後に発光試薬（9-(4-クロロフェニルチオホスホリルオキシメチリデン)-10-メチルアクリダン二ナトリウム塩）を添加し発光量を測定します。検体中のＰＩＶＫＡ－Ⅱ量に応じて発光量は増加し、標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Bで予め作成された標準曲線を基にＰＩＶＫＡ－Ⅱ量を算出し、1μg/mL以上を陽性、1μg/mL未満を陰性と判定します。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法

（1）本品の測定には血漿を使用して下さい。
（2）赤血球・その他の有形成分、沈殿物、浮遊物が含まれている検体（特にフィブリンクロット、クリオグロブリン沈殿など）では、正しい測定結果が得られない場合があります。使用前に遠心または濾過による除去を行って下さい。
（3）腐敗、変性等の保存状態の悪い検体は使用しないで下さい。
（4）検体は採血した日に測定しない場合、凍結保存して下さい。
（5）凍結融解は1回のみとして、凍結融解を繰り返さないで下さい。
（6）測定結果の精度管理のため、検体と一緒にコントロール（別売りのデタミナーコントロールＣＬ　ピプカルテスト用）を測定することをお薦めします。
（7）検体と検体希釈液を機械上もしくは用手により十分混合し、所定時間静置しておくことをお薦めします。

2. 妨害物質

（1）溶血ヘモグロビンは400mg/dLまで測定結果に影響はありません。
（2）遊離型ビリルビン濃度20mg/dL、抱合型ビリルビン濃度20mg/dLまで測定結果に影響はありません。
（3）乳びは1500ホルマジン濁度まで測定結果に影響はありません。
（4）リウマチ因子500IU/mLまで測定結果に影響はありません。
（5）ビオチンは30ng/mLまで測定結果に影響はありませんが、高用量のビオチン投与している患者の検体は測定結果に影響を受ける事があります。
（6）ビタミンＫ拮抗剤（ワーファリン等）および抗生物質の投与により血中ＰＩＶＫＡ－Ⅱ量が上昇することがありますので注意して下さい。

3. その他

（1）本品のご使用に当っては、本添付文書のほか別売試薬それぞれの添付文書もご参照下さい。
（2）本品は、標準曲線をマスターカーブとしてバーコード管理しています。標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Bを用いて、標準曲線の較正を行って下さい。また本品の製造番号が異なる場合は、マスターカーブを改めて入力して下さい。
（3）再使用するガラス器具は使用前に洗浄し、よくすすいで、洗浄剤などを完全に除去して下さい。使い捨てガラス器具の使用を推奨します。
（4）試薬を溶解するときは、泡立てないよう穏やかに溶解して下さい。
（5）ピペット操作は、可能な限り正確に行って下さい。
（6）製造番号の異なるキット中の試薬を組み合わせて使用しないで下さい。また、同一の製造番号の試薬であっても、試薬を注ぎ足して使用しないで下さい。
（7）水は必ず精製水を使用し、水道水は用いないで下さい。
（8）試薬及び消耗品は専用のものを使用して下さい。
（9）SA結合粒子を横や傾けた状態で長時間放置しないで下さい。
⑽ 本品は全自動化学発光免疫測定装置ＣＬ－ＪＡＣＫ、全自動化学発光免疫測定装置ＣＬ－ＪＡＣＫ　ＲＫの専用試薬です。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製法

（1）ＳＡ結合粒子
機器あるいは用手にて十分に分散（懸濁）してから使用して下さい。
（2）標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、B
1）各バイアルを室内温度（19～26℃）に戻します。
2）アルミキャップ、ゴム栓をはずし、精製水を0.5mLずつ正確に加えます。
3）蓋をして、10分間静置します。
4）泡立てないように注意深く転倒混和し、内容物を完全に溶解します。
5）溶解した標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Bは2～8℃で保存し、1週間以内に使用して下さい。
6）1週間以内に再使用しない場合は、プラスチック製容器に分注後、－20℃以下で保存して下さい。
（3）洗浄液
1）ＣＬ　アナライザー洗浄液200mLを精製水1800mLで希釈混和し、室内温度（19～26℃）に戻してから使用して下さい。
2）調製後は常温放置で30日間有効です。
（4）その他の試薬
そのままご使用下さい。

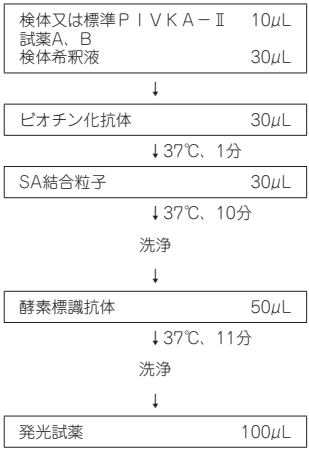
2. 必要な器具・器材・試料等

（1）全自動化学発光免疫測定装置
（2）ＣＬ　検体プローブ洗浄液
（3）キュベット
（4）マイクロピペット
（5）ＣＬ　アナライザー洗浄液
（6）ＣＬ　検体希釈液　ＰＩＶＫＡ－Ⅱ用

3. 測定法

（1）測定システムの取扱い方法に従って必要な情報（標準曲線及び検体に関する情報）を入力します。
（2）測定に必要な試薬、検体及びキュベットを所定の位置にセットします。
（3）標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Bを用いて、標準曲線の較正を行って下さい。
（4）測定システムの取扱い方法に従って測定を開始します。自動的に以下に示す方法で測定が行われます。

測定法概略
免疫発光測定装置「全自動化学発光免疫測定装置　ＣＬ－ＪＡＣＫ　ＲＫ」による測定条件例



1. 検体又は標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Ｂ 10μLと検体希釈液30μLを混合し、試料を調製します（機械上もしくは用手により行います）。
2. 試料40μLにピオチン化抗体30μLを加え撹拌し、37℃で1分間反応させます。さらにSA結合粒子30μLを加え撹拌し、37℃で10分間反応させます。
3. B/F分離後、洗浄液にて洗浄を行います。洗浄液はＣＬ　アナライザー洗浄液をご利用下さい。
4. 洗浄後、酵素標識抗体50μLを加え撹拌し、37℃で11分間反応させます。
5. B/F分離後、洗浄液にて洗浄を行います。
6. 発光試薬100μLを加え撹拌し、37℃で45秒間反応させます。
7. 発光量を測定します。

【測定結果の判定法】

臨床判定基準として、本品におけるビタミンK欠乏状態の検査としての判定基準は、1μg/mL未満を正常域とし、1μg/mL以上を異常域としますが[1-4]、基準値は種々の要因で変動するため、各施設において独自の判定基準を設定することを推奨します。
測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果等と合わせて担当医師が総合的に判断して下さい。

【性能】

自社施設において、自社試験方法に従い、感度、正確性、同時再現性、最小検出感度、相関性の試験を行った結果は以下のとおりでした。

1. 性能

（1）感度
　1）生理食塩水および標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬Ａを測定したとき以下に示す式で表されるR1が3以上でした。
　R1=標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬Aのカウント*2／生理食塩水のカウント
　2）標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬のA、Bを測定したとき以下に示す式で表されるR2が100以上でした。
　R2=標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬Bのカウント／標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬Aのカウント
　＊2　カウントとは発光試薬がアルカリホスファターゼにより化学発光し生じた光子（フォトン）を光電子増倍管で測定するときの単位です。
（2）正確性
　陽性管理検体および陰性管理検体を測定した時、陽性管理検体は陽性、陰性管理検体は陰性と判定されました。

（3）同時再現性
陽性管理検体および陰性管理検体をそれぞれ10回同時測定した時、陽性管理検体は全て陽性、陰性管理検体は全て陰性と判定されました。
（4）最小検出感度
本品の最小検出感度は0.01μg/mLでした。
（5）較正用の基準物質（標準物質）
社内標準を使用しています。

2. 相関性試験成績

本品とラテックス凝集法キット「ビブカルテスト」との相関性を検討した結果は以下のとおりでした。[5] ビタミンK欠乏症判定基準の1μg/mL未満を正常域、1μg/mL以上を異常域としています。

例数	n=59
異常域一致率	100.0%
正常域一致率	96.8%
全体一致率	98.3%

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上（危険防止）の注意

（1）検体はHBV、HCV、HIV等による感染の危険性があります。検体の取扱いには、使い捨て手袋・実験着・保護用眼鏡等を着用し、感染防止のため人体に直接触れないように注意して下さい。測定後はよく手を洗って下さい。
（2）標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Bはヒト由来成分を含んでいます。HBs抗原、HIV抗体、HCV抗体の検査を行い、陰性の結果を得ていますが、その他の感染因子を含んでいることも考えられます。標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Bの取扱いには使い捨て手袋・実験着・保護用眼鏡を着用し、感染防止のため人体に直接触れないように注意して下さい。測定後はよく手を洗って下さい。
（3）検体及び試薬を扱う場合には、口によるピペッティングを行わないで下さい。
（4）構成試薬（1,2,3）はアジ化ナトリウム（0.1%以下）を含有しております。これらを含むすべての試薬について誤って目や口に入れたり、皮膚に付着した場合は水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。
（5）試薬をこぼした場合は水で希釈した後拭き取って下さい。検体をこぼした場合は、80％アルコールスプレー等を使用し十分に拭き取って下さい。なお、拭き取る際にはゴム製手袋等により手を保護して下さい。
（6）本品及び検体を取扱う場所では飲食又は喫煙をしないで下さい。
（7）本品中の標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Bを開封する場合は、アルミキャップを矢印の方向に溝の片側が切れるまでゆっくり引き、切れた反対側に回転させて取り除いて下さい。アルミ部分が残った場合は、素手で取らずペンチ等で取り除いて下さい。

2. 使用上の注意

（1）マスターカーブカード、標準濃度カードは濡らしたり、ペンで記入したりしないで下さい。
（2）発光試薬の取扱いには十分注意して下さい。発光試薬は光に敏感なので光に曝さないで下さい。手指が直接発光試薬液に触れた場合は廃棄してください。
（3）試薬は傾いた状態で保管しないで下さい。傾いた状態で保管すると、SA結合粒子が乾燥や凝集することで品質が変化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないで下さい。
（4）溶解後の標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、B以外の試薬は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存して下さい。凍結させた試薬は品質が変化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないで下さい。
（5）発光試薬は、SA結合粒子、ビオチン化抗体、酵素標識抗体、標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Bのセットとは別売りです。
（6）使用期限を過ぎた試薬は使用しないで下さい。
（7）製造番号の異なる試薬を混ぜて使用しないで下さい。
（8）試薬の外観に異常がある場合は使用しないで下さい。
（9）標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A､Bを室内温度（19～26℃）に戻す際に､恒温槽に漬けたりしないで下さい。
（10）標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、B（凍結乾燥試薬）の瓶中は陰圧になっていますので、試薬が飛散しないよう、注意して静かに開栓して下さい。

3. 廃棄上の注意

（1）検体にはHBV、HCV、HIV等の感染性のものが存在する場合があります。また標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、Bはヒト由来成分を含んでいます。これらを使用した器具、廃液などは次のいずれかの方法で処理するか、各施設の感染性医療廃棄物処理マニュアルに従って処理して下さい。

1）オートクレーブにより121℃で20分以上滅菌処理すること。ただし、次亜塩素酸ナトリウム溶液を含む廃棄物は、オートクレーブにかけないこと。

2）次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度1000ppm）又はグルタルアルデヒド（2%）に1時間以上浸漬し消毒処理すること。

（2）試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理して下さい。

（3）構成試薬（1,2,3）はアジ化ナトリウム（0.1%以下）を含有しております。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成することがありますので、試薬廃棄の際には排水管に残留しないよう十分量の水で希釈して洗い流して下さい。

（4）廃棄処理中に試薬が飛散した場合は、水で希釈してから拭き取って下さい。また検体が飛散した場合は、80%アルコールスプレー等を使用して十分に拭き取って下さい。なお、拭き取る際にはゴム製手袋等により手を保護して下さい。

（5）本品中の容器等は他の目的に転用しないで下さい。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法：2～8℃に保存（冷暗所に保存し、凍結は絶対に避けて下さい。）
2. キットとしての有効期間：9ヵ月
   構成試薬ごとの有効期間は包装単位欄に記載しております。（使用期限は外箱に記載）

【包装単位】

試薬名	包装単位	商品コード	有効期間
デタミナーＣＬ　ピプカルテスト（SA結合粒子、ビオチン化抗体、酵素標識抗体および標準ＰＩＶＫＡ－Ⅱ試薬A、B）	100回用	58748-4	12ヵ月
発光試薬	25mL×3	56008-1	9ヵ月
	50mL×4	57276-3	9ヵ月

検体希釈液には、以下のＣＬ　検体希釈液　ＰＩＶＫＡ－Ⅱ用をご使用下さい。
ＣＬ　検体希釈液　ＰＩＶＫＡ－Ⅱ用　　11mL×3　　商品コード58334-9
洗浄液には、以下のＣＬ　アナライザー洗浄液をご使用下さい。
ＣＬ　アナライザー洗浄液　　200mL×2　　商品コード55117-1

【主要文献】

1）青木正博 他：産婦人科の世界, 36, 1069（1984）
2）宮地良和　：日本小児科学会雑誌, 88, 1267（1984）
3）白幡　聡 他：日本新生児学会雑誌, 21, 334（1985）
4）社内資料
5）社内報告書

【問い合わせ先】

協和メデックス株式会社　学術担当
〒104-6004　東京都中央区晴海 1-8-10
ダイヤルイン　03-6219-7608

製造販売元
協和メデックス株式会社
東京都中央区晴海 1-8-10